

大環状抗生物質ハービマイシンの化学修飾(2) : チオアルキル誘導体

著者	柴田 潔, 薩摩林 貞美, 富田 文美
雑誌名	日本歯科大学紀要. 一般教育系
巻	25
ページ	75-85
発行年	1996-03-20
URL	http://doi.org/10.14983/00000456



大環状抗生物質ハービマイシンの化学修飾 II.¹⁾

チオアルキル誘導体

Chemical Modification of Herbimycin A in Macrocyclic Antibiotics II. Thioalkyl derivatives of Herbimycin A.

歯学部	柴田	潔
	薩摩林	貞美
東京理科大学理学部	富田	文美

Kiyoshi SHIBATA and Sadayoshi SATSUMABAYASHI

The Nippon Dental University,
Fujimi, Chiyoda-ku, Tokyo 102, JAPAN

Ayami Tomita

Department of Applied Chemistry, Faculty of Science, Science University of Tokyo,
Kagurazaka, Shinjyu-ku, Tokyo, 162, JAPAN

(1997年11月30日 受理)

Herbimycin 類^{2,3)}は、兵庫県城崎郡香住町の土壌より分離された放線菌 *Streptomyces hygroscopicus* AM-3672 株の培養液より単離された抗生物質で、Fig.1 に示したような構造をもつ。これらは、Benzoquinoid 系の Ansamycin 群に属する大環状ラクタム抗生物質で、強い除草活性の他に抗腫瘍活性、殺細胞

作用、抗ウイルス活性および一部の真菌に対しては抗菌活性を示す²⁾。

さらに近年、*in vitro* において、これらの生物活性の他に Herbimycin A (**1**) が *src* ファミリーの癌遺伝子産物である Tyrosine kinase を特異的に阻害し、癌遺伝子の発現を妨げ、癌細胞を死滅または破壊することなく、正常な細胞に戻す作用を示すこと⁴⁻⁷⁾、また血管新生阻害作用を示すこと⁸⁾も報告された。これらのことは、新種の癌治療薬の開発に通じるばかりでなく、特定の癌遺伝子に作用することから発癌機序の解明にも役立つものと期待されている。

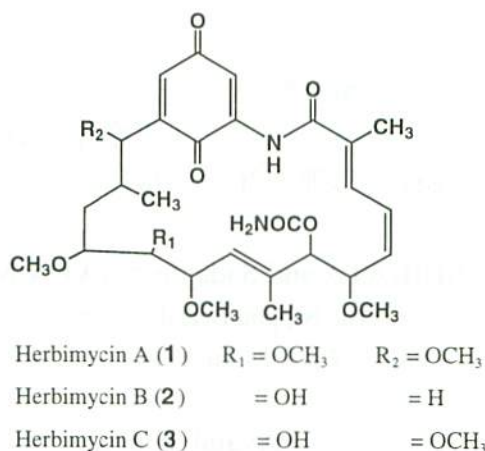


Fig. 1 Structure of Herbimycins

ところが、**1** は *in vivo* の条件において、癌遺伝子発現阻害作用を再現しないことや、*in vitro* の条件においてもある種のチオアルキル化合物を添加することにより、阻害作用を失うことが明らかになった⁹⁾。そこで、この作用に対するチオアルキル化合物の作用の解明、すなわち **1** にチオアルキル基が導入された化合物が活性を示さないものなのか、あるいは酵素反応中にチオアルキル化合物そのものが作用して反応を阻害するのかを明らかにすることを目的として、チオアルキル化合物を用い **1** の化学修飾を行ない、生物活性を測定することにした。本報文においては、これら目的のうち化学修飾に関する部分を述べることにする。

チオアルキル化合物としては、癌遺伝子発現阻害作用の有無が確認されている⁸⁾ Ethanethiol(A), 2-Mercaptoethanol (B), Dithiothreitol (C), Cysteine (D), Cystine (E), Glutathione (ox.) (F), Glutathione (red.) (G), Methionine (H) の8種類を選んだ。そして、これらのチオアルキル化合物と **1** との反応性を調べたうえで、

反応条件等について種々検討を行い、**1** のチオアルキル誘導体を得ることができたので以下に報告する。

結果と考察

チオアルキル化合物 8 種類について、反応時間や濃度を変えて **1** と反応させ、高速液体クロマトグラフィー(HPLC)で分析を行った結果、チオール基をもつ A,B,C,D,G の 5 種類の化合物が Herbinycin A (**1**) と反応して Retention Time の異なる生成物を与えるのに対して、チオール基をもたない残りの 3 種類の化合物は **1** とは反応しないことが判明した。すなわち、**1** の生物活性を消失させる化合物のみが反応していた。このことから、生成物の構造を明らかにし、さらに構造と活性についての検討を行った。

Herbinycin A にチオアルキル化合物を反応させ、得られた生成物を TLC で分析したところ、無色のスポットのほかに有色のスポットが得られた。これは、**1** にチオール部分が付加した無色のセミキノン型生成物と、それが空気酸化または TLC のシリカゲルの酸性により変化した有色のキノン型生成物の 2 種と考えられる。すなわち、チオール基の性質として、目的としているキノンのカルボニルの β 位に対する付加(マイケル付加)だけでなく、チオール分子がジスルフィドとなるために、Herbinycin A のキノンが還元されてハイドロキノン構造(**2**)にすること、また同時にこれらが生じることも予想された。また、チオール化合物の付加反応とどちらが優先的に起きるのかは、チオール化合物それぞれの酸化電位によるものと思われる。そこで、単離精製を簡便にするため塩化鉄(III)水溶液¹⁰⁾で生成物のクロモファー部分を酸化してから単離精製を行うことにした。

Herbinycin A (**1**) を Ethanethiol と常法により処理することにより、乳白色の粉末を得、次いでメタノールに溶解し、10% 塩化鉄(III)水溶液を加え室温で酸化した。酸化後の生成物について、silica gel preparative TLC にて分離精製して R_f 値 0.42 を示す化合物 **3** を橙色粉末として、また R_f 値 0.59 を示す化合物 **4** を赤色粉末としてそれぞれ得た。

化合物 **3** は FAB Mass スペクトルにおいて、**1** と比較して 60 マスユニット大きい分子イオンピーク $M^+ m/z$ 634 を与えることから Ethanethiol が一分

子置換したことが示唆された。また、化合物 **3** の $^1\text{H-NMR}$ スペクトルにおいては、19 位(**1** では $\delta 7.34$)のプロトンシグナルが消失しているのに加え、**1** では 15,19 位のプロトンシグナルとの long range coupling のため、17 位のプロトンシグナルが double of doublet ($J=2.1$ and 1.9 Hz) として観測されるのに対して、**3** では doublet に変化している。さらに、 $^{13}\text{C-NMR}$ スペクトルでは 19 位のカーボンシグナル(**1** では $\delta 112.9$)が $\delta 141.5$ に生じ、DEPT スペクトルで 4 置換を示した。これらのことより、19 位モノ置換体すなわち、19-S-Ethylthioherbimycin A であると決定した。

化合物 **4** は FAB Mass スペクトルにおいて、**1** と比較して 120 マスユニット大きい分子イオンピーク $M^+ m/z$ 694 を与えることから、Ethanethiol が二分子置換したことが示唆された。また、化合物 **4** の $^1\text{H-NMR}$ スペクトルにおいては、17 位および 19 位(**1** では $\delta 6.61, 7.34$)のプロトンシグナルが消失した。さらに、 $^{13}\text{C-NMR}$ スペクトルでは 17 位のカーボンシグナルが $\delta 125.8$ に、19 位(**1** では $\delta 112.9$)のそれが $\delta 140.7$ に生じ、いずれも DEPT スペクトルで 4 置換を示した。これらのことより、17,19-Di-(S-ethylthio)-herbimycin A であると決定した。

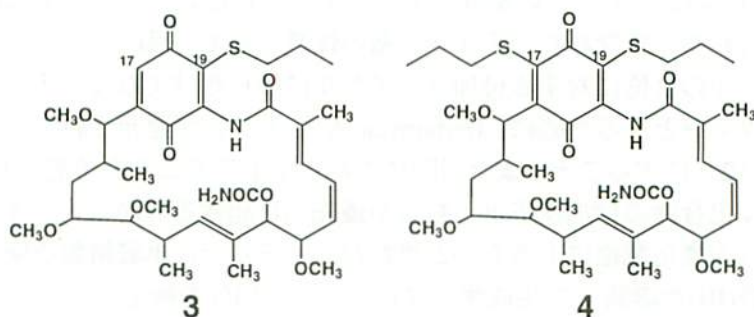


Fig. 2. Structure of Herbimycin A derivatives (**3** and **4**)

これとは別に、**1** を 2-Mercaptoethanol と処理すると赤褐色粉末として化合物 **5** を化合物 **6** とともに得た。一方、反応の試薬濃度、反応時間を変えると褐色粉末として化合物 **7** を化合物 **5** とともに得た。

化合物 **5** は FAB Mass スペクトルにおいて **1** と比較して、76 マスユニット大きい分子イオンピーク $M^+ m/z$ 650 を与え、これよりいずれかに 2-Mercaptoethanol が一分子置換したことが示唆された。また、化合物 **5** の $^1\text{H-NMR}$ スペクトルにおいては、19 位(**1** では $\delta 7.34$)のプロトンシグナルが消失

しているのに加え、**3** の場合と同様に DEPT スペクトルでの変化が見られたことから、19 位モノ置換体すなわち 19-(S-2-Oxyethylthio)-herbimycin A であると決定した。

化合物 **6** は FAB Mass スペクトルにおいて **1** と比較して、152 マスユニット大きい分子イオンピーク $M^+ m/z$ 726 を与え、2-Mercaptoethanol が二分子置換したことが示唆された。 $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$ スペクトルより、17 および 19 位のシグナルの変化が **4** と同様であったことから、17,19-Di-(S-2-Oxyethylthio)-herbimycin A と決定した。

さらに、化合物 **7** は FAB Mass スペクトルにおいて **1** と比較して、76 マスユニット大きい分子イオンピーク $M^+ m/z$ 650 を与え、これよりいずれかに 2-Mercaptoethanol が一分子置換したことが示唆された。しかしながらこれは、化合物 **5** の分子量と一致しているものの TLC 上の R_f 値が異なり、同一の化合物ではない。**7** の $^1\text{H-NMR}$ スペクトルでは、17 位のプロトンシグナルが消失しているのに加え、19 位のプロトンシグナルが singlet に変化して見られた。また一方で $^{13}\text{C-NMR}$ スペクトルでは、キノン部カルボニルの 18 位に位置するカーボンシグナルが消失し、 $\delta 105.1$ に新たなシグナルが生じている。これらより、チオール基が 17 位とマイケル付加後酸化され、さらにキノンカルボニル基と水酸基間で縮合が生じているものと推定し、Fig 3 に示す構造と決定した。

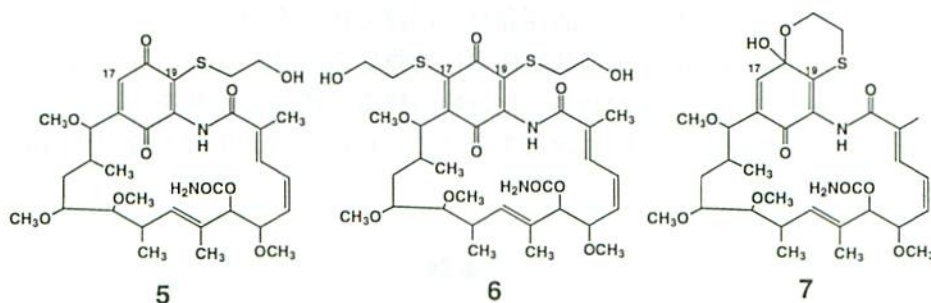


Fig. 3. Structure of Herbimycin A derivatives (**5**, **6** and **7**)

なお、この縮合が反応(マイケル付加、酸化)中に生じるものか、また精製中に生じるものかについては明らかではない。

一方、Cysteine との反応では同様に処理することにより、褐色物質 **8** を主生成物として同次に化合物 **9** および **10** を与えた。精製の過程で、酸化直後の結果では主生成物と思われた化合物 **8** の量が減り、2 種の化合物 **9** と **10**

の量が増加した。また、化合物 **8** を単離後、NMR 測定のため CDCl_3 に溶解すると、ただちに変化し **8** と **9** の混合物となり、NMR の測定結果は得られたが、チャートが単一でなく、構造決定は不可能だった。しかし、いずれの化合物も、19 位のプロトンシグナルが消失したこと、キノン部カルボニルの 18 位に位置するカーボンシグナルが消失したことなどから、まだ検討中でマスペクトルの結果との一致も見られないものの、環状構造をとり 2 環によるクロモファー（発色団）を形成していると予想した。

また、Glutathione(red.) との反応 では、得られた生成物の性状が大きく変化し、水溶性が高くなり精製過程で用いる溶媒を、酢酸-ブタノール系とし分離精製して褐色粉末として化合物 **11** を得た。ところが、**11** は難溶性のため構造決定に至っていない。

いっぽう、Dithiothreitol との反応 では、10% 塩化鉄 (III) 水溶液を加え室温で酸化後、同様に処理し黄色粉末として化合物を得た。ところが、黄色粉末が **1** と同一の Rf 値および Retention Time を示し、また反応液中の反応生成物は **1** のキノン部を sodium hydrosulfite で還元した還元体 **2** と同一の Rf 値および Retention Time を示したことから、本反応による生成物は **1** の還元体 18,21-O-Dihydroherbimycin A であることが判明した。

以上のことから、反応に用いたチオアルキル化合物はいずれも癌遺伝子発現阻止作用を妨げる化合物であるが、Dithiothreitol が付加反応を示さないこと、また、これまでの知見から、活性発現には還元体が有利であることなどを考えあわせると、付加反応により低活性の化合物に誘導されているとは限らないことが明らかになった。すなわち、化合物の構造と活性の相関を明らかにしていくとともに、酵素反応系におけるチオアルキル化合物の作用も検討する必要があることも示唆された。

実験

クロマトグラフィーは以下に示す機器を用いて行った。

HPLC 本体	日立 638-30 型
HPLC 検出器	日立紫外吸収型 635M
HPLC インテグレーター	横河ヒューレットパッカー

HP3390A

微量分析

Herbimycin A (1 mg)を $\text{CH}_3\text{CN}:\text{H}_2\text{O}=7:3$ の混合液 (0.5ml) に溶解後、8 種類の thioalkyl compounds (ethanethiol, 2-mercaptoethanol, dithiothreitol, cysteine, cystine, glutathione(ox.), glutathione(red.), methionine) をそれぞれ加え、室温にて攪拌し、30 分後、1 時間後、2 時間後、5 時間後、over night 後の 5 回について高速液体クロマトグラフィー(HPLC) における保持時間 (R.T.:Retention Time) を測定した。なお、thioalkyl compounds の量については、Herbimycin A に対して 0.6 倍 mol, 1.2 倍 mol, 5 倍 mol, 10 倍 mol の 4 種類の条件についてそれぞれ行った。

次に、前述の結果の生成物と量比を検討し、大量合成に用いる条件を選んだ。なお、Cystine は多くの溶媒に対して不溶であり、HPLC 分析が不可能なため除外した。

カラム	reversed phase silica gel column, Capcell pack C18(SG)
溶出溶媒	$\text{CH}_3\text{CN}:\text{H}_2\text{O}=7:3$
流量	1ml/minute
検出	UVmonitor (270,280nm)

Herbimycin A の還元体 (2)

Herbimycin A (1 mg) を $\text{CH}_3\text{CN}:\text{H}_2\text{O}=7:3$ の混合液 (1ml) に溶解後、sodium hydrosulfite (1 mg)を加え室温にて数分間攪拌した。反応溶液に benzene (5ml)と ethanol (2ml)を加え含まれる水を共沸させ、減圧下濃縮乾固し、無色粉末 **2** を得た。 **2** :Rf 0.18

19-S-Ethylthioherbimycin A (3) と 17,19-Di-(S-ethylthio)-herbimycin A (4)

Herbimycin A (100.0 mg)を $\text{CH}_3\text{CN}:\text{H}_2\text{O}=7:3$ の混合液 (10ml) に溶解後、ethanethiol (60.0 μ l) を加え室温にて 5 時間攪拌した。反応溶液に benzene (20ml)と ethanol (10ml)を加え含まれる水を共沸させ減圧下濃縮乾固し、乳白色の粉末を得た。得られた粉末に methanol (10ml) と 10%塩化鉄(III)水溶液 (5ml) を加え、室温にて 1 時間攪拌した後、 CHCl_3 (20ml)で希釈し、 H_2O を加え抽出、減圧濃縮、減圧乾固することにより赤色粉末を得た。この粉末を silica gel preparative TLC で分離精製し、silica gel TLC (benzene:acetone = 7 : 3) 上で Rf 値 0.42 およ

び 0.59 を示すそれぞれの画分を集めて濃縮し、橙色粉末 **3** (8.9 mg, 7.4%) および 赤色粉末 **4** (29.2 mg, 26.4%) を得た。

3 : m.p. 117.2~123.4°C, Rf 0.42, Mass M⁺ m/z 634 (calcd for C₃₂H₄₆O₉N₂S)
¹H-NMR (400MHz CDCl₃) δ0.53 (3H, d, J=7Hz, 14-CH₃), 0.77 (2H, t, 10Hz, 13-H), 0.99 (3H, d, 5Hz, 10-CH₃), 1.30 (3H, s, 8-CH₃), 1.32 (3H, t, 5Hz, 19-SCHCH₃), 1.82 (1H, m, 5Hz, 10-H), 1.98 (3H, s, 2-CH₃), 2.31 (1H, m, 4Hz, 14-H), 2.98 (1H, q, 10Hz, 12-H), 3.10 (2H, q, 5Hz, 19-SCH₂CH), 3.12 (1H, t, 5Hz, 11-H), 3.16 (3H, s, 6-OCH₃), 3.22 (3H, s, 11-OCH₃), 3.31 (3H, s, 12-OCH₃), 3.50 (3H, s, 15-OCH₃), 4.05 (1H, t, 4Hz, 6-H), 4.48 (1H, dd, 4Hz, 15-H), 4.68 (2H, s, 7-OCONH₂), 5.08 (1H, d, 9Hz, 7-H), 5.28 (1H, d, 5Hz, 9-H), 5.32 (1H, t, 10Hz, 5-H), 6.32 (1H, d, 10Hz, 4-H), 6.41 (1H, d, 10Hz, 3-H), 6.74 (1H, d, 2Hz, 17-H), 7.26 (1H, s, 20-NH-)

4 : m.p. 92.2 °C, Rf 0.59, Mass M⁺ m/z 694 (C₃₂H₅₀O₉N₂S₂)
¹H-NMR(400MHz CDCl₃) δ0.99 (3H, d, 10-CH₃), 1.17 (3H, d, 14-CH₃), 1.35 (6H, t, 17-SCHCH₃, 19-SCHCH₃), 1.55 (3H, br-s, 8-CH₃), 2.04 (3H, s, 2-CH₃), 2.40 (1H, m, 10-H), 2.85 (1H, m, 14-H), 3.00 (1H, q, 12-H), 3.04 (2H, q, 19-SCH₂CH), 3.08 (2H, t, 13-H₂), 3.10 (1H, t, 11-H), 3.23 (6H, s, 11-OCH₃, 12-OCH₃), 3.30 (3H, s, 6-OCH₃), 3.36 (2H, q, 17-SCH₂CH), 3.41 (3H, s, 15-OCH₃), 4.10 (1H, t, 6-H), 4.50 (1H, d, 15-H), 4.60 (2H, s, 7-OCONH₂), 5.10 (1H, d, 7-H), 5.20 (1H, d, 9-H), 5.40 (1H, t, 5-H), 6.40 (1H, t, 4-H), 6.70(1H, d, 3-H), 7.30 (1H, s, 20-NH-)

19-(S-2-Oxyethylthio)-herbimycin A (**5**)と 17,19-Di-(S-2-Oxyethylthio)-herbimycin A (**6**)

Herbimycin A (100.0 mg)を CH₃CN:H₂O=7:3 の混合液(10ml)に溶解後、2-mercaptoethanol (136.0μl) を加え室温にて 40 分間攪拌した。反応溶液に benzene (20ml)と ethanol (10ml) を加え含まれる水を共沸させ、減圧下濃縮乾固し、乳白色の粉末を得た。得られた粉末に methanol (10ml)と 10%塩化鉄 (III) 水溶液 (5ml) を加え、室温にて 1 時間攪拌した後、CHCl₃ (20ml)で希釈し、H₂O を加え抽出、減圧濃縮、減圧乾固することにより赤橙色粉末を得た。この粉末を silica gel preparative TLC で分離精製し、silica gel TLC (benzene:acetone=7:3) 上で Rf 値

0.26 を示す画分を集めて濃縮し、赤褐色粉末 **5** (83.7 mg, 73.9%) を褐色粉末 **6** (15.6 mg, 13.8%) とともに得た。

- 5**: m.p. 105.4~112.2°C, Rf 0.26, Mass M^+ m/z 650 ($C_{32}H_{46}O_{10}N_2S$)
 1H -NMR (400MHz $CDCl_3$) δ 0.51 (3H, d, $J=7$ Hz, 14- CH_3), 0.72 (2H, t, 10Hz, 13- H_2), 0.99 (3H, d, 7Hz, 10- CH_3), 1.27 (3H, s, 8- CH_3), 1.82 (1H, m, 4Hz, 10-H), 1.96 (3H, s, 2- CH_3), 2.30 (1H, m, 4Hz, 14-H), 2.90 (4H, t, 6Hz, 19- SCH_2CH_2OH), 2.94 (1H, d, 9Hz, 12-H), 3.10 (1H, t, 3Hz, 11-H), 3.17 (3H, s, 6- OCH_3), 3.22 (3H, s, 11- OCH_3), 3.30 (3H, s, 12- OCH_3), 3.50 (3H, s, 15- OCH_3), 3.90 (1H, t, 6Hz, 19- $SCHCHOH$), 4.04 (1H, t, 10Hz, 6-H), 4.47 (1H, d, 4Hz, 15-H), 4.88 (2H, s, 7- $CONH_2$), 5.03 (1H, d, 9Hz, 7-H), 5.28 (1H, d, 12Hz, 9-H), 5.32 (1H, d, 12Hz, 5-H), 6.31 (1H, t, 12Hz, 4-H), 6.43 (1H, d, 12Hz, 3-H), 6.77 (1H, d, 1Hz, 17-H), 8.76 (1H, s, 20-NH)
- 6**: m.p. 109.8~110.4°C, Rf 0.37, Mass M^+ m/z 726 ($C_{34}H_{50}O_{11}N_2S_2$)
 1H -NMR (400MHz $CDCl_3$) δ 2.84 (1H, m, $J=4$ Hz, 10-H), 4.28 (1H, t, 7Hz, 6-H), 4.79 (2H, s, 7- $CONH_2$), 4.98 (1H, d, 7-H), 5.42 (1H, m, 9Hz, 9-H), 5.84 (1H, d, 5-H), 6.53 (1H, d, 4-H), 6.90 (1H, d, 12Hz, 3-H), 8.03 (1H, s, 20-NH)

18,19-Cyclo-18-O-hydro-19-(S-2-oxethylthio)-herbimycin A (**7**)

Herbimycin A (120.0 mg) を $CH_3CN:H_2O=7:3$ の混合液 (10ml) に溶解後、2-mercaptoethanol (163.2 μ l) を加え室温にて 3 日間攪拌した。反応溶液を $CHCl_3$ (20ml) で希釈後、 H_2O を加え抽出、減圧下濃縮乾固し、淡橙色の粉末を得た。得られた粉末に methanol (10ml) と 10% 塩化鉄(III)水溶液 (5ml) を加え、室温にて 1 時間攪拌した後、 $CHCl_3$ (20ml) で希釈し、 H_2O を加え抽出、減圧濃縮、減圧乾固することにより赤色粉末を得た。この粉末を、silica gel を用いた column chromatography (口径 2.5 cm, 長さ 20 cm, 展開溶媒 benzene:acetone=7:3) で分離精製し、silica gel TLC (benzene:acetone=7:3) 上で Rf 値 0.21 を示す画分を集めて濃縮し、褐色粉末 **7** (50.4 mg, 33.2%) を **5** とともに得た。

- 7**: m.p. 102.4~104.6, Rf 0.21, Mass M^+ m/z 726 ($C_{32}H_{46}O_{10}N_2S$)
 ^{13}C NMR (100MHz $CDCl_3$) δ 105.1 (s, 19-C)

Cysteine との反応生成物

Cysteine (104.7 mg)を $\text{CH}_3\text{CN}:\text{H}_2\text{O}=7:3$ の混合液 (10ml) に溶解後、Herbimycin A (100.0 mg)を加えて溶解させ、室温にて 70 分間攪拌した。反応溶液に benzene (20ml)と ethanol (10ml)を加え含まれる水を共沸させ、減圧下濃縮乾固し、乳白色の粉末を得た。得られた粉末に methanol (10ml)と 10%塩化鉄(III)水溶液 (5ml)を加え、室温にて 1 時間攪拌した後、 CHCl_3 (20ml)で希釈し、 H_2O を加え抽出、減圧濃縮、減圧乾固することにより褐色粉末を得た。この粉末を、silica gel preparative TLC 上に展開させ、これを 1 日間放置した後精製し、silica gel TLC (benzene:acetone=6:4) 上で Rf 値 0.52 (**10**), 0.62(**8**), 0.73 (**9**) を示すそれぞれの画分を集めて濃縮したところ、同じ Rf 値 0.62 を示す 3 種の赤色粉末を得た。このうち、収量がもっとも多く、硫酸噴霧後燃焼させた結果、他の 2 つの画分と別の物質と判明した画分を **8** (30.5 mg, 26.5%)とした。

8 : m.p. 164.8~168.8°C, Rf 0.62, Mass M^+ m/z 661

Glutathione(red.) との反応生成物

Glutathione(red.) (79.5 mg)を $\text{CH}_3\text{CN}:\text{H}_2\text{O}=7:3$ の混合液(10ml)に溶解後、Herbimycin A (30.0 mg) を加えて溶解させ、室温にて 210 分間攪拌した。反応溶液に benzene (20ml)と ethanol (10 ml) を加え含まれる水を共沸させ、減圧下濃縮乾固し、乳白色の粉末を得た。得られた粉末に methanol (10ml)と 10%塩化鉄(III)水溶液 (5ml)を加え、室温にて 1 時間攪拌した後、 CH_3OH (40ml)で希釈し、 H_2O を加え抽出、減圧濃縮、減圧乾固することにより赤褐色粉末を得た。この粉末を、silica gel preparative TLC で分離精製し、silica gel TLC (酢酸: $\text{CH}_3\text{OH}=2:8$)上で Rf 値 0.49 を示す画分を集めて濃縮し、褐色粉末 **11** (15.6 mg) を得た。

11 : Rf 0.49 (酢酸: $\text{CH}_3\text{OH}=2:8$)

Dithiothreitol との反応

Dithiothreitol (67.5 mg)を $\text{CH}_3\text{CN}:\text{H}_2\text{O}=7:3$ の混合液 (10ml) に溶解後、Herbimycin A (50.0 mg) を加えて溶解させ、室温にて 20 分間攪拌した。反応溶液を CHCl_3 (20ml)で希釈後、 H_2O を加え抽出し、有機層を無水 Na_2SO_4 にて乾燥した。その後、減圧下濃縮乾固し、乳白色の粉末を得た。得られた粉末を、**2** と silica gel TLC 上で比較した。さらに、得られた粉末に methanol (10ml)と 10%塩化鉄(III)水溶液 (5ml) を加え、室温にて 1 時間攪拌した後、 CHCl_3 (20ml)で希釈し、 H_2O を加え抽出、減圧濃縮、減圧乾固することにより黄色粉末を得た。この粉末を、Herbimycin A と silica gel TLC 上で比較した。

文献

- 1) Shibata, K.; S. Satsumabayashi, H. Sano, K. komiyama, A. Nakagawa & S. Omura : J. Antibiotics **39**, 415, 1986
- 2) Omura, S.; Y. Iwai, N. Sadakane, A. Nakagawa, H. Oiua, Y. Hasegawa & T. Ikai : J. Antibiotics **32**, 255, 1979
- 3) Omura, S.; A. Nakagawa & N. Sadakane : Tetrahedron Lett. 1979 : 4323, 1979
- 4) Uehara, Y.; M. Hori, T. Takeuchi & H. Umezawa : Jpn. J. Cancer Res. (Gann) **76** : 672, 1985
- 5) Uehara, Y.; M. Hori, T. Takeuchi & H. Umezawa : Moi. Cell Biol. **6** : 2198, 1986
- 6) Umezawa, K.; S. Atsumi, T. Matsushima & T. Takeuchi : Experientia **43**: 614, 1987
- 7) Uehara, Y.; Y. Murakami, S. Mizuno & S. Kawai : Virology **164** : 294, 1988
- 8) Yamashita, T.; M. Sakai, Y. Kawai, M. Andou & K. Takahashi : J. Antibiotics **42** : 1015, 1989
- 9) Uehara, Y.; H. Fukazawa, Y. Murakami & S. Mizuno : Biochem. Biophys. Res. Com. **163** : 803, 1989
- 10) Long-Ze Lin; G. Blasko & G. A. Cordell : J. Natural Products **51** : 1161, 1988